no abs

UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

257

O. VERONA, P. CIPRIANI

Ricerche sulla demolizione microbica del colesterolo

ESTRATTO DALLA « RIVISTA DELL' ISTITUTO SIEROTERAPICO ITALIANO »
VOLUME 26 - N. 2 - MARZO-APRILE 1951

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
5 DEC 1951

NAPOLI 1951

ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE E MICROBIOLOGIA AGRARIA
E TECNICA DELL'UNIVERSITÀ DI PISA
DIRETTORE: PROF. O. VERONA

Ricerche sulla demolizione microbica del colesterolo

O. VERONA, P. CIPRIANI

ESTRATTO DALLA « RIVISTA DELL'ISTITUTO SIEROTERAPICO ITALIANO »
VOLUME 26 - N. 2 - MARZO-APRILE 1951

NAPOLI - 1951

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/universita-di-pisa-osservatorio-regionale-di-fitopatologia_march-april-1951_257

ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE E MICROBIOLOGIA AGRARIA
E TECNICA DELL' UNIVERSITÀ DI PISA
Direttore: Prof. O. VERONA

RICERCHE SULLA DEMOLIZIONE MICROBICA DEL COLESTEROLO

O. VERONA, P. CIPRIANI

La voluminosa molecola del colesterolo ha fatto sempre ritenere questo composto difficilmente aggredibile per via microrganica.

A parte il colesterolo, azioni riduttive o, più facilmente, ossidative degli steridi sono state tuttavia descritte da parte di vari Autori. Gli studi Italiani (Arnaudi e Coll.) hanno portato in questo campo di ricerche contributi veramente notevoli con la segnalazione e descrizione di specie nuove alla sistematica e particolarmente attive sui vari composti, quali *Flavobacterium dehydrogenans* (Arnaudi 1942), *Corynebacterium medionalum* (Mamoli 1944), *Flavobacterium androstenediodicum* (Ercoli e Molina 1944), *Flavobacterium carbonilicum* (Molina e Ercoli 1944) (1).

Ultimamente sono apparsi, sull'argomento, interessanti lavori di Turfitt (2), quindi di Schatz, Savard e Pintner (3) e, di Arnaudi (4).

Aveva osservato Turfitt che i maggiori responsabili della demolizione del colesterolo dovessero essere specie del genere *Nocardia* e, in particolar modo, *N. erythropolis*. Più tardi ammetteva peraltro anche l' intervento, ma in minor grado, di batteri Gram-negativi.

Schatz e Coll. inoculando con terreno, torba, letame, un mezzo assai più completo di quello usato da Turfitt (per presenza di e. micronutritivi e fattori di crescenza) più difficilmente, nelle successive colture di isolamento, hanno ottenuto specie del gen. *Nocardia* quanto invece batteri, tutti rappresentati da bastoncini immobili, Gram-negativi, aerobi obbligati. Osservano questi AA. che l'apparente contrasto tra i loro risultati e quelli di Turfitt è verosimilmente da spiegarsi con la natura del mezzo colturale impiegato.

Intanto Arnaudi trovava particolarmente attivi alcuni *Flavobacterium*.

Attraverso gli uni e gli altri risultati emergono comunque due fatti importanti:

1) il colesterolo, nonostante la robustezza della sua mole-

cola e contrariamente a quanto era ritenuto fino a pochi anni or sono, risulta utilizzabile da parte dei comuni microbi ambientali;

2°) per quanto è noto tali microbi sono rappresentati da specie di *Nocardia* (Turfitt), da batteri Gram-negativi (Schatz e Coll.) e da Flavobatteri (Arnaudi).

Attesi i noti rapporti che esistono tra colesterolo e sostanze a funzione ormonica da una parte e sostanze ad azione oncogena dall'altra, ci è apparso che la demolizione del colesterolo dovesse essere più attentamente seguita: sopratutto sotto quest' ultimo aspetto che, a differenza del primo, non ci sembra ancora investigato. In altri termini ci siamo chiesti se, durante il processo demolitivo, un qualche metabolita non presentasse, per caso, azione cancerigena.

Mentre esperienze in questo senso — necessariamente lunghe — sono in corso, abbiamo creduto che meritassero di essere riferiti alcuni risultati, di interesse più generale, relativi alla demolizione della colesterina.

Per queste prime esperienze ci siamo riallacciati alla tecnica di Schatz e Coll. usando pertanto analogo mezzo colturale.

Cioè, al mezzo base costituito da:

acqua dist.	100,—
colesterolo	0,1
fosfato monopotassico	0,1
nitrato ammonico	0,2
solfato di magnesio	0,02

è stato aggiunto 1 cc della sol. *A* ed 1 cc della sol. *B*.

sol. *A*		sol. *B*	
acqua dist.	1000,—	acqua dist.	100,—
solfato di ferro	0,01	d. l. triptofano	0,2
cloruro di calcio	0,01	d. l. metionina	0,1
ac. borico	0,0002	nicotammide	0,002
nitrato di cobalto	0,0001	tiamina	0,002
solfato di rame	0,00001	Ca. pantotenato	0,001
» di manganese	0,00001	piridossina	0,001
ammonio molibdato	0,0001	riboflavina	0,001
solfato di zinco	0,0002	biotina	0,00001

Il colesterolo è stato addizionato in soluzione acetonica, a caldo, dopo sterilizzazione del mezzo. È noto come in tal modo, il colesterolo, rimanga nello stesso mezzo in sospensione colloidale stabile.

Con tale mezzo sono state allestite due serie di matracci in alcuni dei quali fu aggiunto, peraltro, carbonato di calcio in ragione dell' 1 %. Lasciati alcuni di controllo altri furono seminati con piccola quantità di una sospensione, molto diluita, di terra di orto o di liquame. Delle due serie di matracci una veniva periodicamente scossa (arieggiata) mentre l'altra fu lasciata in riposo. Tutto in termostato a 24°-25° C per determinare quindi, periodicamente, l' intensità dello eventuale sviluppo e la quantità di colesterolo scomparsa.

I risultati analitici figurano nell'annessa Tabella.

Giorni	Controllo		TERRENO				LIQUAME			
			1 % Ca CO_3		no Ca CO_3		1 % Ca CO_3		no Ca CO_3	
	pH	colesterolo mg %	pH	colesterolo mg %	pH	colesterolo mg %	pH	colesterolo mg %	pH	colesterolo mg %
colture arieggiate (scosse)										
inizio	6,4	91	6,9	87	6,4	94	6,9	94	6,4	92
5	6,3	92	6,8	60	5,3	65	6,8	48	5,8	57
10	6,3	90	7,6	25	5,6	30	7,2	20	4	22
colture statiche										
inizio	6,4	90	6,9	95	6,4	90	6,9	92	6,4	90
5	6,3	90	6,8	65	5,8	70	6,6	60	6,3	63
15	6	90	7,4	10	6,4	12	6,6	10	4,3	10

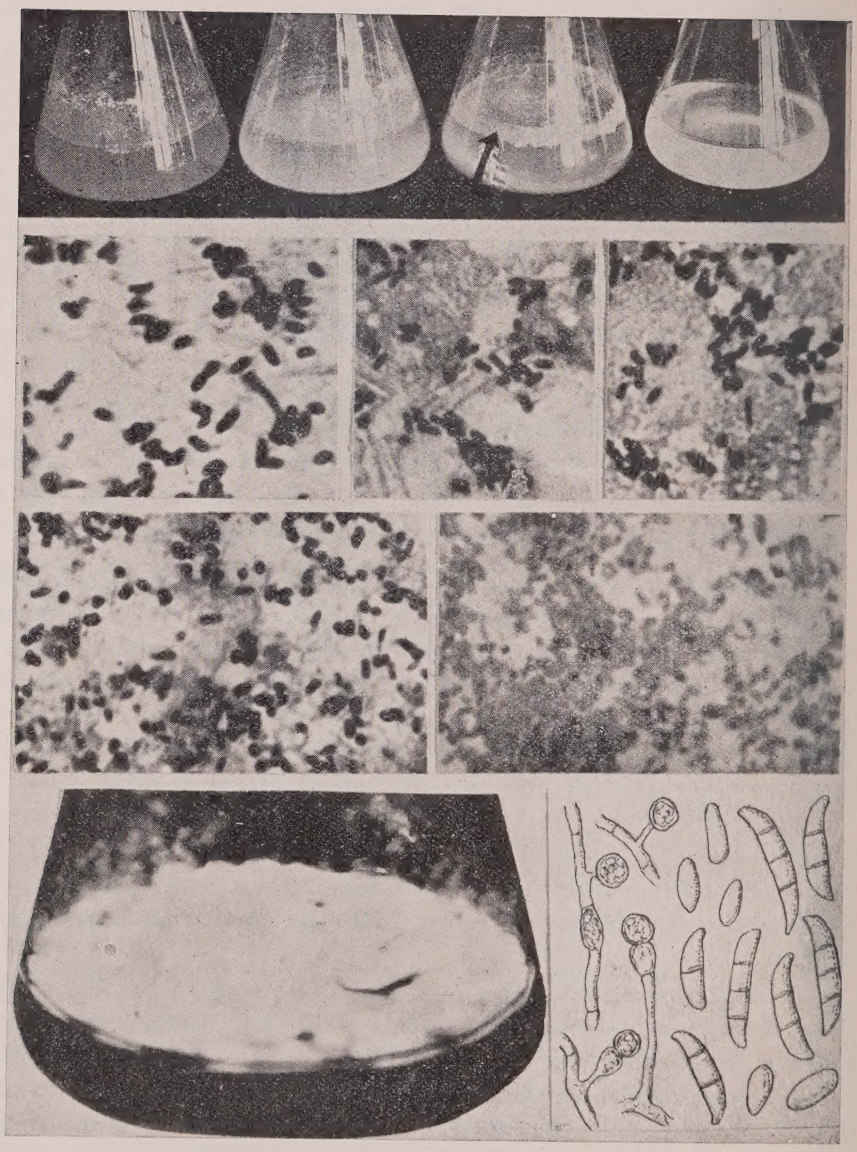
A completamento si osserva che già al 5° giorno lo sviluppo apparì positivo in tutti i matracci e in particolare modo evidente, sotto forma di più forte intorbidamento e anello, nelle colture arieggiate; ma anche delle colture statiche, e precisamente in quella inoculata con terra e presente carbonato di calcio, si ebbe singolare sviluppo con fortissimo intorbidamento e velo su tutta la superficie del liquido che prese un colore gialliccio.

Al 10-15° giorno l'intorbidamento si manifestò ancora più intenso e, quasi ovunque, si notò formazione di anello o di sottile velo che, nelle colture scosse, tornò subito a formarsi. Oltre il 15° giorno in un matraccio prese sviluppo una densa vegetazione fungina.

Esami microscopici di questi liquidi misero in evidenza una flora relativamente omogenea, formata di corti bastoncini in prevalenza Gram-negativi.

Allestite colture a piatto con agar nutritivo si ebbe sviluppo di colonie riferibili fondamentalmente a tre tipi: 1-colonie irregolarmente tondeggianti, piatte, subtrasparenti, florescenti; II-colonie rotonde di 2-6 mm., ialine, nucleate, fortemente mucose, bombate, umide, subtrasparenti a bordo unito; III-colonie rotonde, più piccole (2-4 mm.), opache, bianco-latte, poco rilevate a bordo unito.

Quale sia il comportamento di queste specie, rispetto al co-



IN ALTO : l'ultimo matraccio a destra, controllo (nessuno sviluppo); negli altri, intorbidamento, velo superficiale, anello, indice di evidente sviluppo.

IN CENTRO : preparati dai liquidi colturali (col. al violetto di genziana, ingr. 1500 circa); in basso a destra preparato al Gram (ingr. 1300 circa).

IN BASSO : *Fusarium* sp. in coltura.

lesterolo, rimane a stabilire. Nel frattempo, facendo uso del solito mezzo, abbiamo invece coltivato separatamente poche specie di collezione ottenendo i risultati seguenti:

SVILUPPO NEGATIVO		SVILUPPO POSITIVO	
Batterio flavogeno	15	Batterio flavogeno	1
» »	13	» »	14
» »	18	» »	17
» »	2	*Pen. crustosum*	
Candida parapsilosis		*Sphaeropsis necatrix*	
Aspergillus niger			
Candida olea			

Ma l'attenzione maggiore fu rivolta verso un fungo che vedemmo svilupparsi in uno dei matracci della precedente esperienza. Non fu difficile isolarlo in coltura pura e diagnosticarlo come una specie di *Fusarium*. Esso forma, su gli agar e nei mezzi liquidi, una vegetazione bianca che talvolta vira leggermente al rosa, soffice, cotonosa, costituita di micelio ialino, settato, di 2,5-2,8 circa.

Formazione abbondante di clamidospore apicali, più difficilmente intercalari semplici o bicellulari, di norma globose, di μ 10-12,5. Conidi 0 - 1-2-3 septati, leggermente falcati misuranti: gli 1-septati μ 7,5-10-20-22,5; i 3 septati μ 7,5 di larghezza fino a μ 38 di lunghezza.

Nel solito mezzo questa specie di *Fusarium* sviluppa prontamente dando vegetazioni assai ricche, indice non dubbio di una pronta utilizzazione del colesterolo. Quale la natura di questa utilizzazione e quali gli eventuali metaboliti al momento non sappiamo; giacchè ricerche in questo senso sono in corso, ma certamente lo sviluppo vegetativo deve essere accompagnato da un processo di ossidazione dato che il pH del mezzo si abbassa notevolmente. Come questo, però, tende con il tempo a rialzarsi, può essere che il processo ossidativo sia seguito da decarbossilazione.

Riassunto

E' ormai provato che il colesterolo, per opera di germi ambientali, viene più o meno velocemente decomposto.

Al processo partecipano specie di *Nocardia* (Turfitt), Batteri Gram-negativi (Schatz e Coll. e queste esperienze), Flavobatteri (Arnaudi) e, per nostra segnalazione, anche specie di funghi. Tra questi emerge l'attività di un *Fusarium* con azione ossidativa seguita forse da decarbossilazione.

Résumé

DÉCOMPOSITION BACTÉRIENNE DU CHOLESTÉROL
(O. Verona, P. Cipriani)

Il a été éprouvé que le cholestérol est décomposé par l'action des microbes ambientals. Au processus partecipent des espèces de *Nocardia* (Turfitt), des Bacteries Gram-negatives (Schatz et Coll. et ces experiences), des Flavobacteries (Arnaudi) et, par notre signalation, aussi des espèces de champignons. Parmi ceux-ci ressort l'activité d'un *Fusarium* avec un'action oxydative suivie, peut-être, d' une decarboxylation.

Summary

MICROBIC DESTRUCTION OF CHOLESTEROL
(O. Verona, P. Cipriani)

The more or less speedy decomposition of cholesterol by atmospheric microbes is demonstrated. The species *Nocardia*, gram-negative bacteria, Flavobacteria and as is now shown, some species of fungus take part in the process. Of these, the process of oxidation by a *Fusarium*, followed by decarboxylation, is apparant.

BIBLIOGRAFIA

v. per la bibliografia base:

1) Arnaudi C. - *Ossidazioni microbiche degli steridi e di sostanze appartenenti al gruppo degli ormoni sessuali.* Boll. Ist. Sier. Milanese, **21**, 1, 1942.

quindi

Ercoli A. e Molina L. - *Sui batteri che determinano l'ossidazione di steroidi ad attività ormonale. Un nuovo stipite di Flavobacterium: il Fl. androstendionicum.* Boll. Ist. Sieroter. Milanese, **23**, 158, 1944.

Molina L. e Ercoli A. - *Sui batteri che determinano l'ossidazione di steroide ad attività ormonale. Isolamento e caratteristiche di un nuovo stipite di Flavobacterium: il Fl. carbonilicum.* Boll. Ist. Sieroter. Milanese, **23**, 164, 1944.

Welsch M. e Heusghem C. - *Streptomyces transformant l'oestradiol en oestrone.* C. R. Soc. Biol., **142**, 1077, 1948.

2) Turfitt G. E. - *Microbiological agencies in the degradation of steroids.* J. Bact., **47**, 487, 1948.

— - *II: Steroid utilization by the microflora of soils.* Id., **54**, 557, 1947.

3) Schatz A., Savard K. e Pintner I. J. - *The ability of soil microrganisms to decompose steroids* J. Bact., **58**, 117, 1949.

4) Arnaudi C. - *Intorno alle attività biochimiche dei Flavobacterium.* Experientia, **2**, 1946.

— - *Oxydation du cholestérol.* Experientia, **5**, 120, 1949.